

Souches de *Staphylococcus aureus* intermédiaire à la vancomycine (VISA) : adaptées pour devenir chroniques ?

Sophie Trouillet-Assant, **Virginie Tafani**, Florent Valour, David Cameron,
Anton Peleg, Tristan Ferry, Frédéric Laurent.

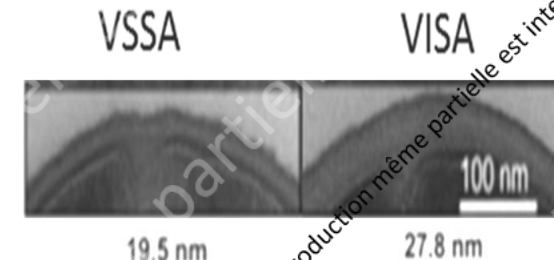
Institut des agents infectieux - Hôpital Nord, Hospices Civils de Lyon
Centre National de Référence des Staphylocoques, Lyon
Centre International de Recherche en Infectiologie - INSERM U1111, Lyon
Monash University, Melbourne, VIC Australia

S. aureus : problème avec souches VISA

- ✓ Utilisation intensive antibiotique → Pression de sélection
- Résistance
- ✓ 1961: MSSA (Méticilline Sensible SA) → MRSA (Méticilline Résistant SA)
- ✓ 1997: VSSA (Vancomycine Sensible SA) → VISA (Vancomycine Intermediate SA)

✓ Caractérisation des souches VISA vs. VSSA

- Phénotypique: **épaississement de la paroi**
 - Génotypique: **Accumulation de mutations not^t dans divers locus régulateurs (*yciI* et *stp1*)**
 - Clinique: **Echecs thérapeutiques, bactériémies persistantes et hospitalisations prolongées**
- MAIS** - pas d'instabilité clinique aiguë
- pas plus de mortalité



→ **Infections chroniques**

De VSSA à VISA : Changement de résistance...et virulence?

Hypothèse: les diverses mutations qui apparaissent lors du switch VSSA-VISA pourraient également impacter la pathogénie

Est-ce que des mécanismes impliqués dans la virulence sont modifiés lors du switch VSSA à VISA ?

- **3 paires de souches cliniques VSSA-VISA**

3 Patients
(bactériémie persistante)

Traitement
vancomycine

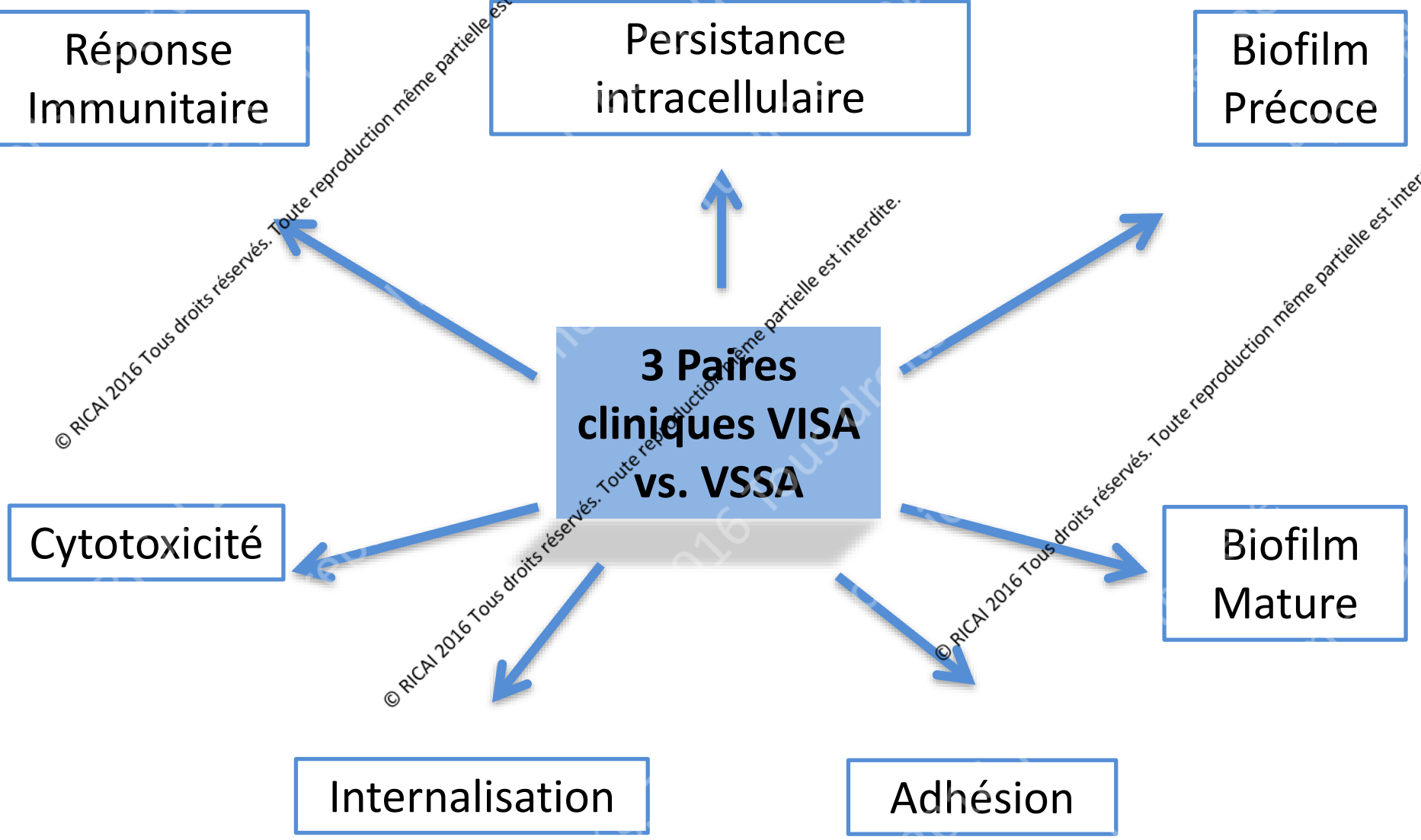
VSSA → VISA

- + **2 souches isogéniques** issues des souches VSSA cliniques

-VSSA Δ *yycl*
-VSSA Δ *stp1*

↑ de la résistance à la vancomycine

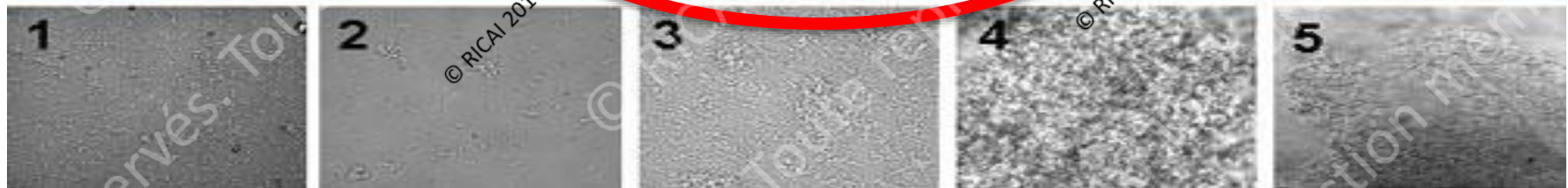
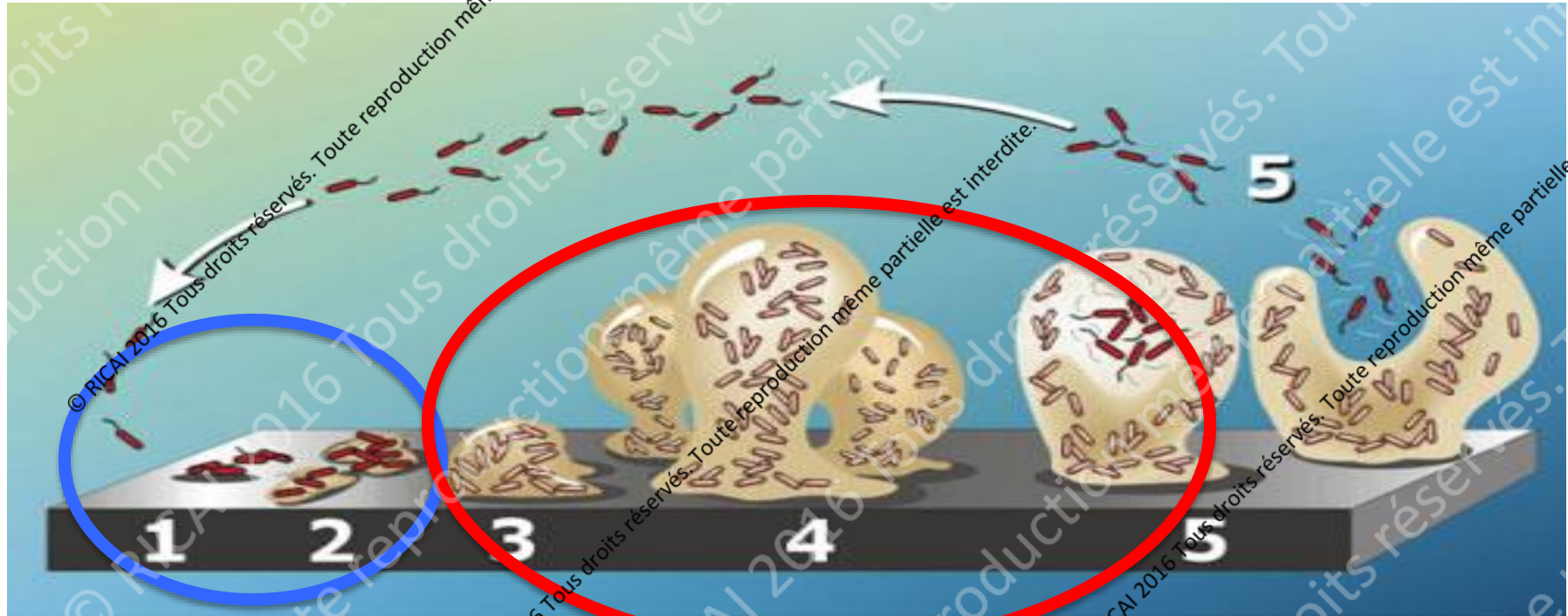
Est ce que des mécanismes impliqués dans la virulence sont modifiés lors du switch VSSA à VISA ?



De VSSA à VISA: Quel impact sur la formation du biofilm?

Adhésion au matériel
Biofilm précoce

Biofilm
Mature



Polymer surface:
hydrophobicity, AtlE,
Aae and teichoic acids

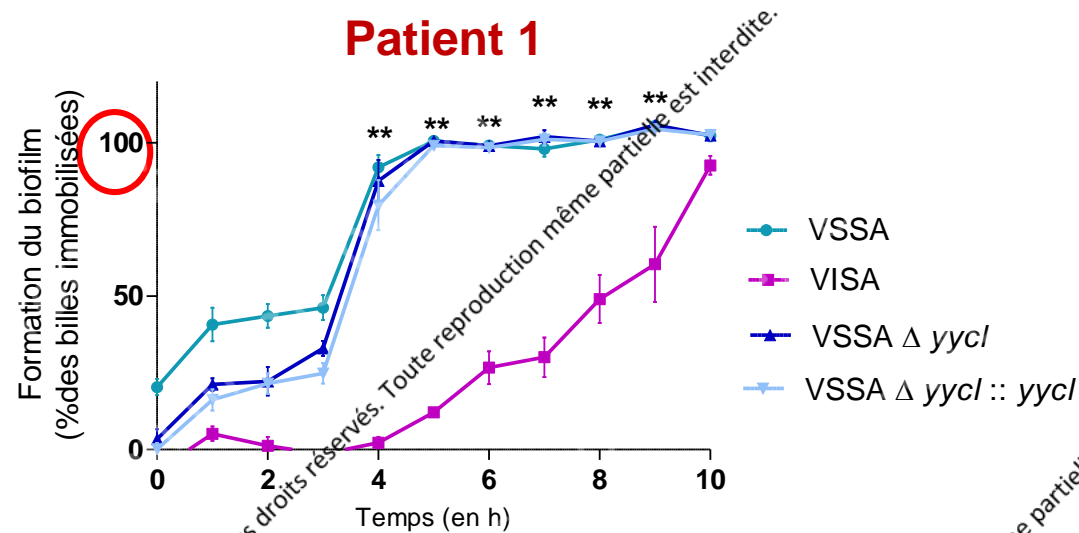
Host matrix proteins:
SdrF, SdrG, SdrH,
Ebp, AtlE and Aae

PNAG,
teichoic acids,
Bap and
Aap

PSM17
Proteases?

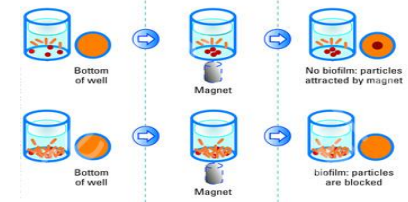
De VSSA à VISA: Quel impact sur la formation du biofilm précoce?

Patient 1

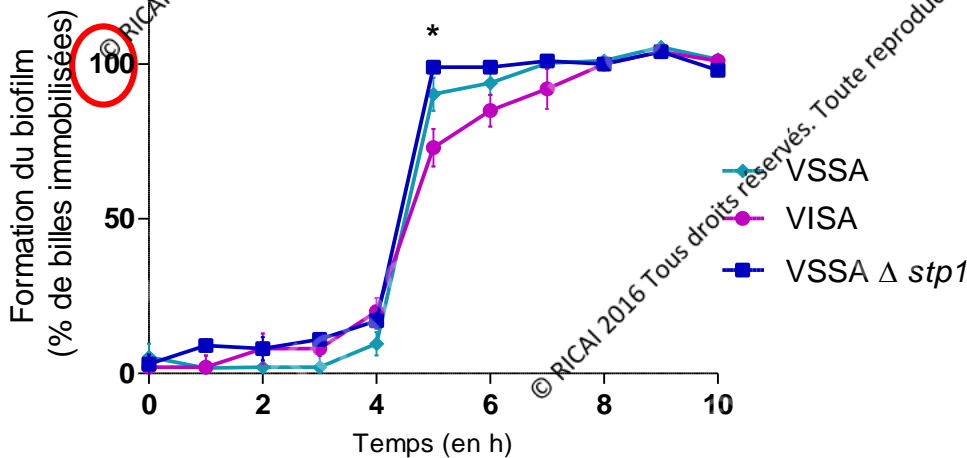


Biofilm précoce Premières heures

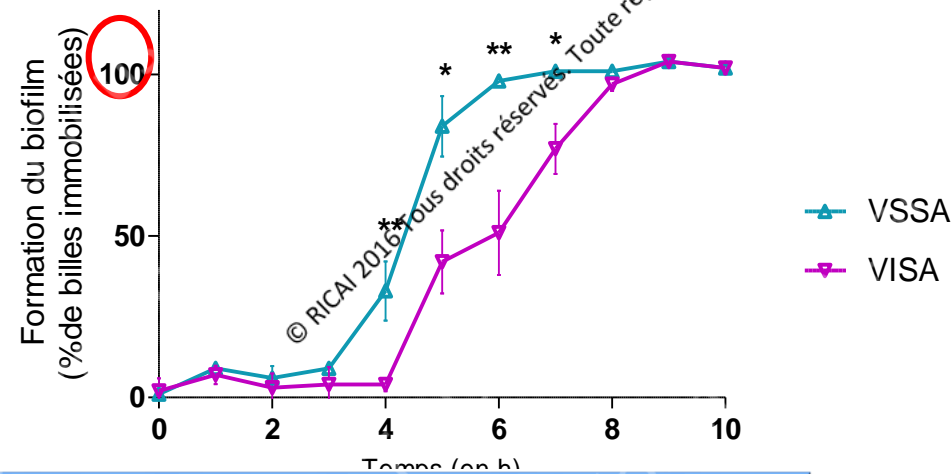
Biofilm Ring Test®



Patient 2



Patient 3



- VISA: Initiation du biofilm plus lente vs. VSSA
- *yycl* et *stp1*: aucun impact

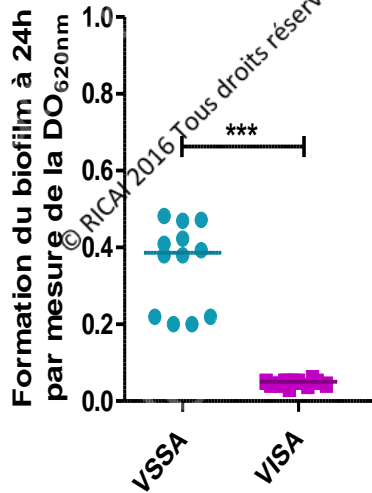
De VSSA à VISA: Quel impact sur la formation du biofilm mature?

Biofilm mature
Après 24h

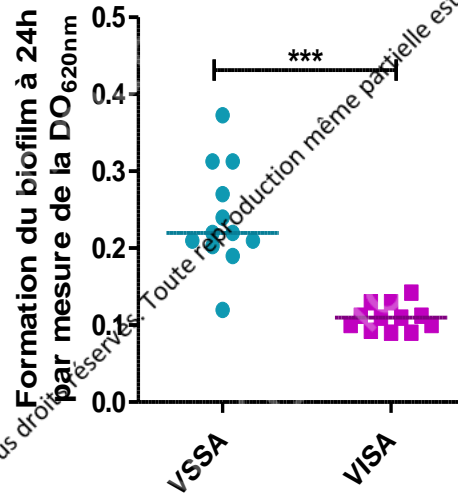


Méthode de coloration au cristal violet

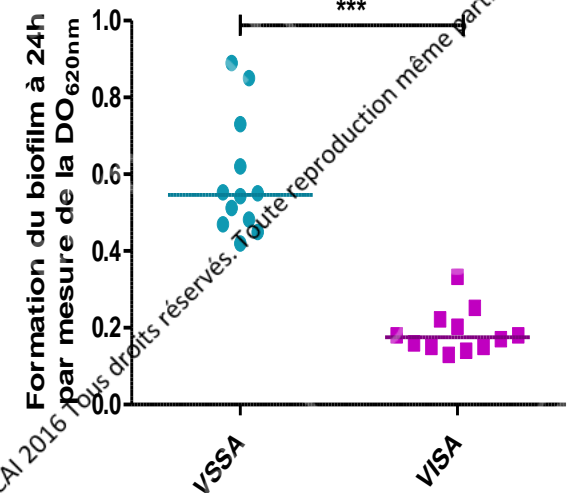
Patient 1



Patient 2



Patient 3



- VISA: significativement moins de biofilm mature vs. VSSA

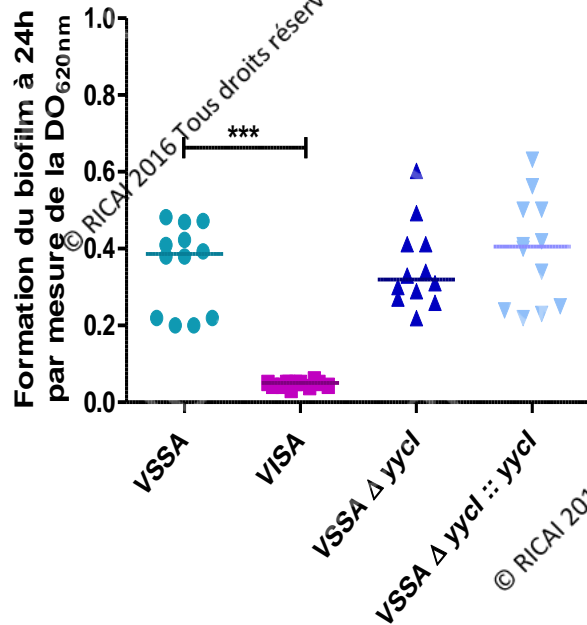
De VSSA à VISA: Quel impact sur la formation du biofilm mature?

Biofilm mature
Après 24h

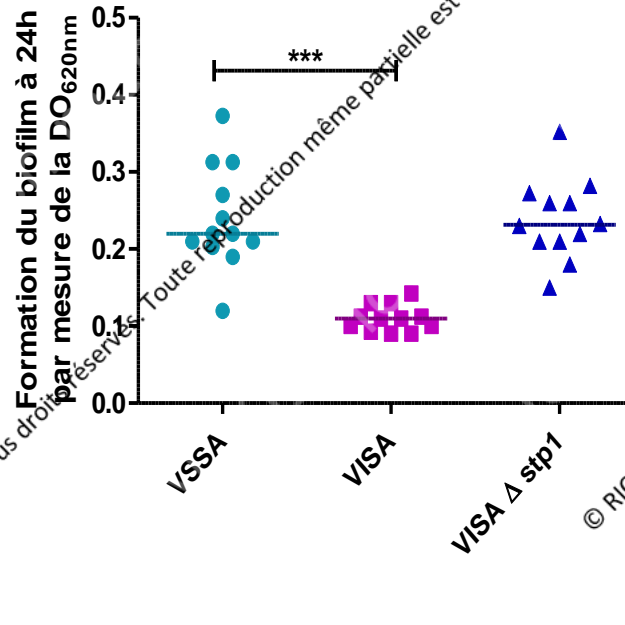


Méthode de coloration au cristal violet

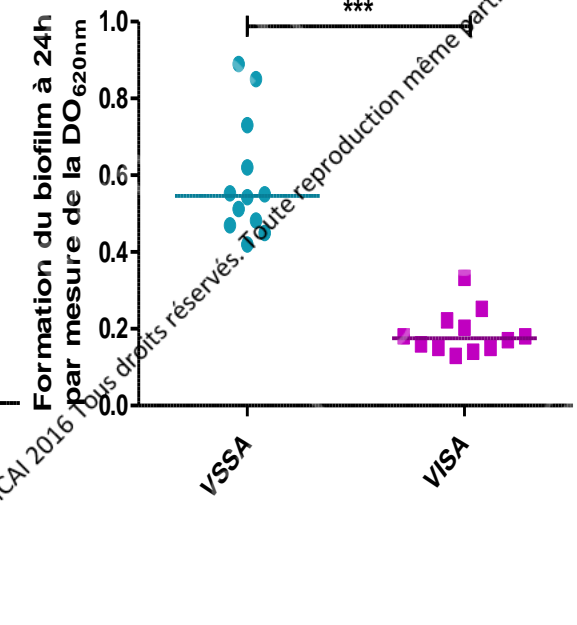
Patient 1



Patient 2

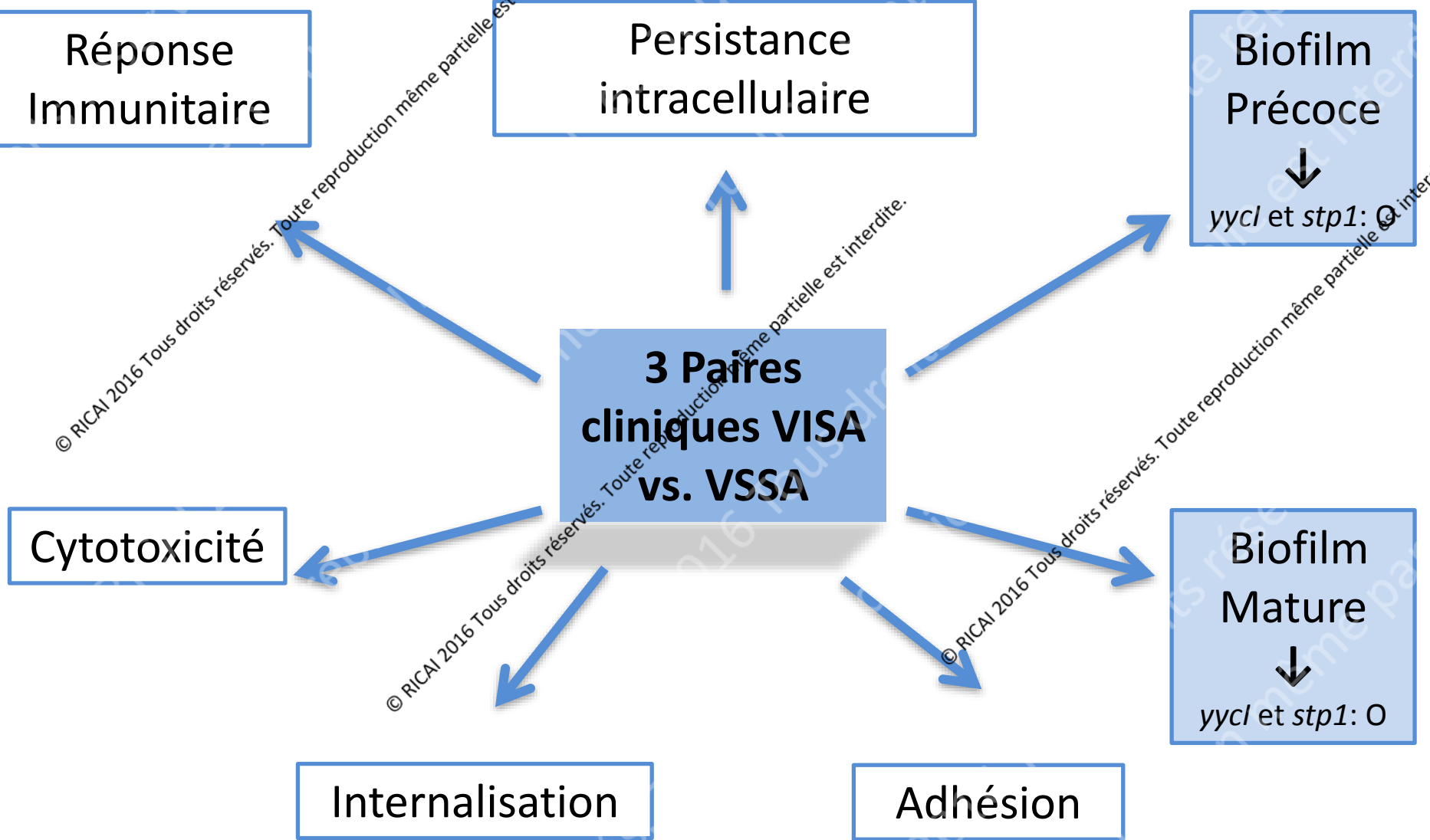


Patient 3

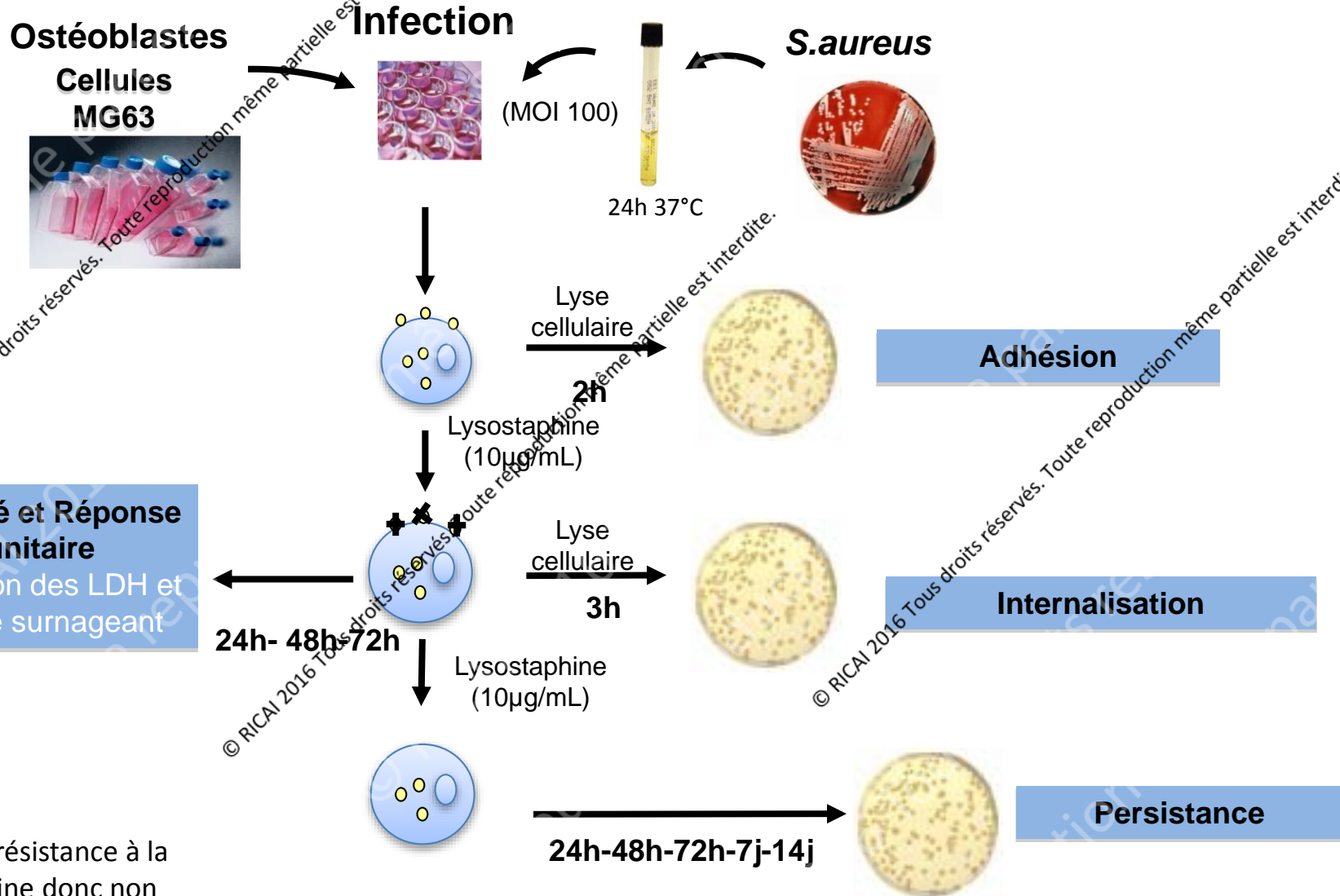


- VISA: significativement moins de biofilm mature vs. VSSA
- *yycl* et *stp1*: aucun impact

Est ce que des mécanismes impliqués dans la virulence sont modifiés lors du switch VSSA à VISA ?

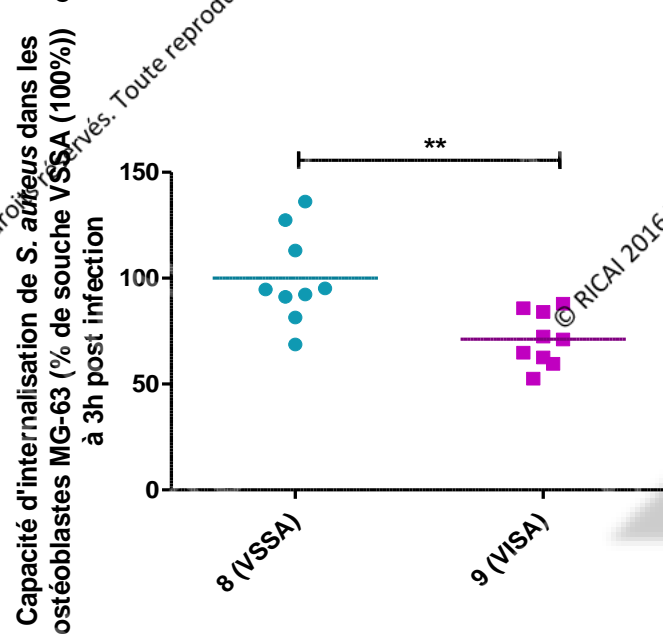
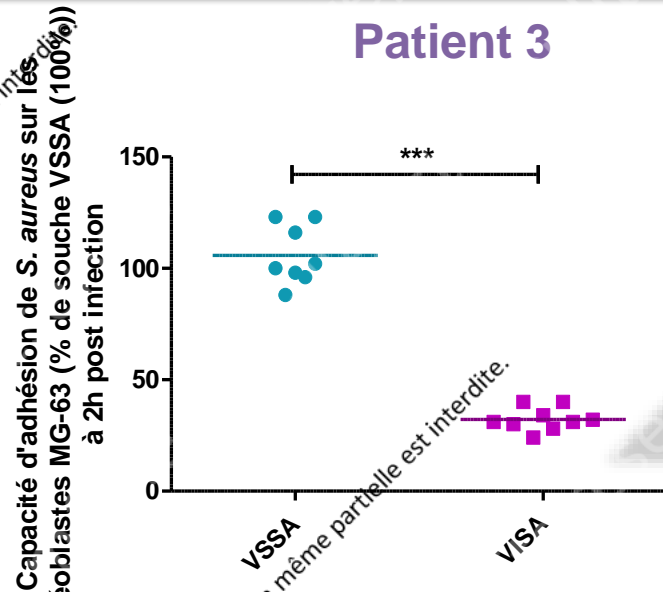
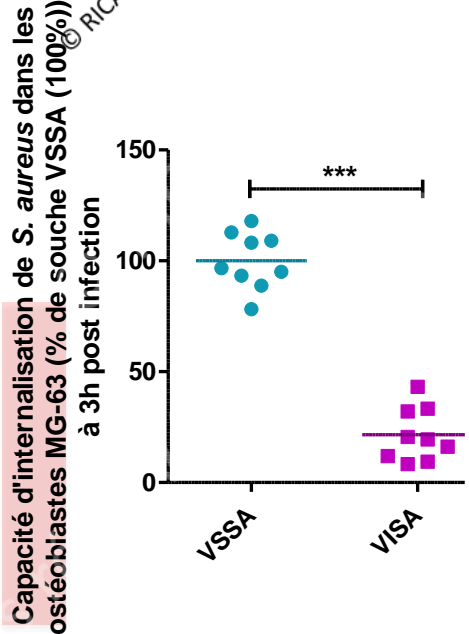
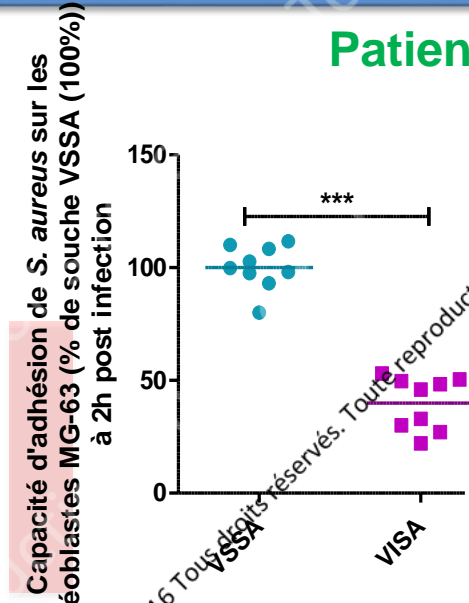


Infection *in vitro* dans les ostéoblastes MG-63 (sur les patients 2 and 3)



Patient 1: résistance à la lysostaphine donc non inclus dans le modèle

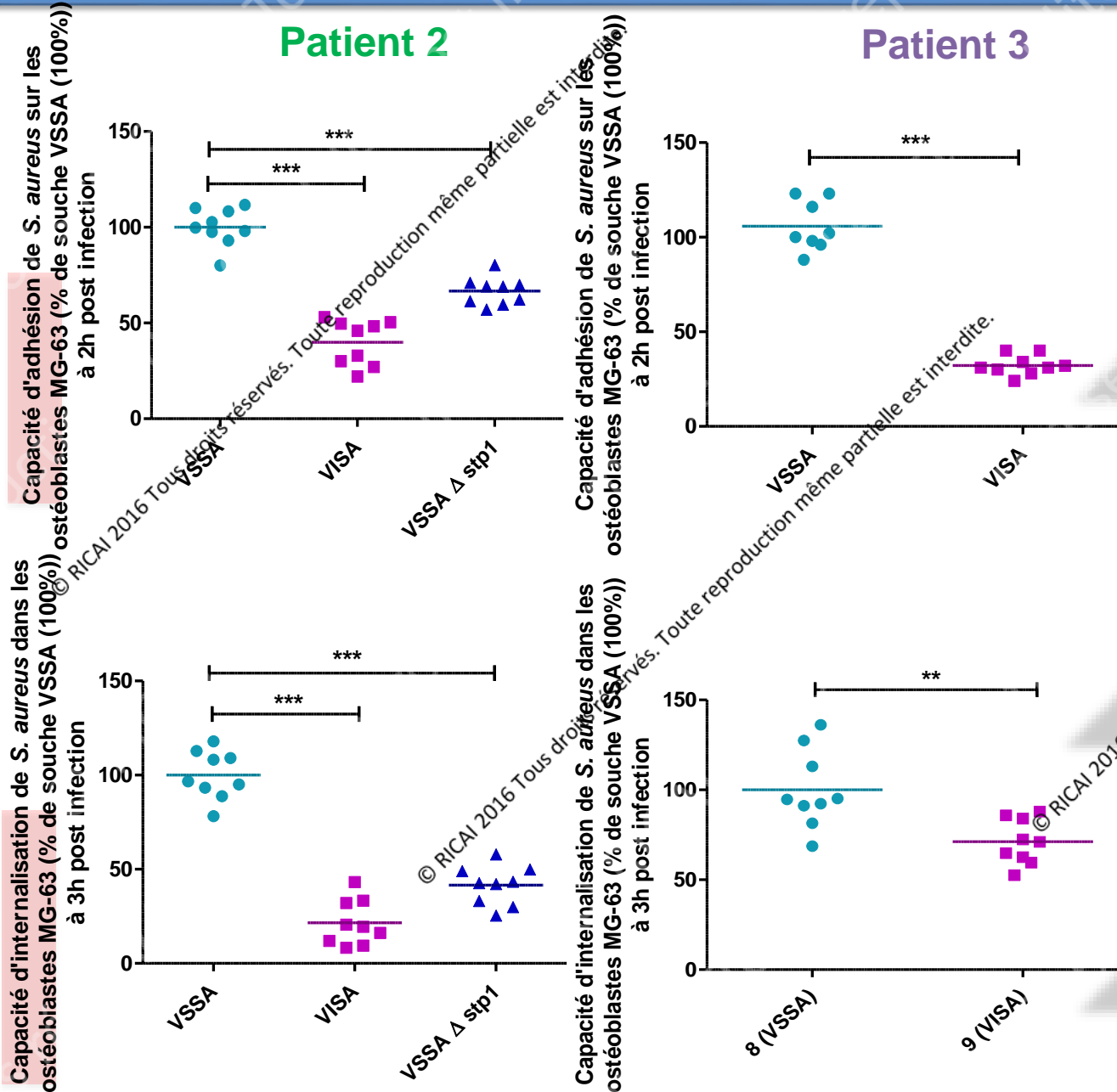
De VSSA à VISA: Quel impact sur l'adhésion/l'internalisation?



VISA:
Baisse significative
de l'adhésion
vs. VSSA

VISA:
Baisse significative
de l'internalisation
vs. VSSA

De VSSA à VISA: Quel impact sur l'adhésion/l'internalisation?

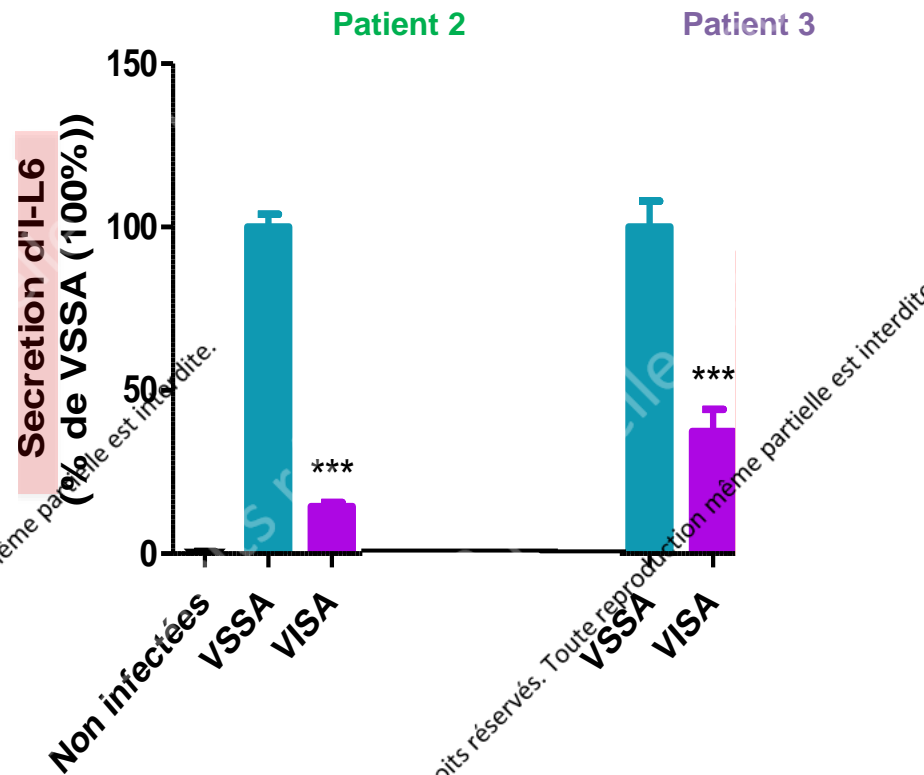
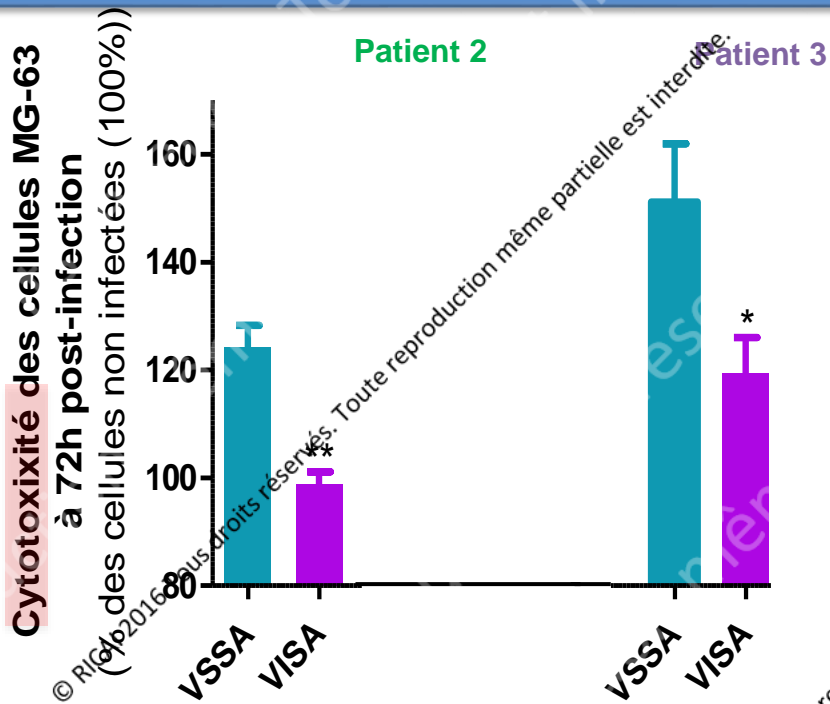


VISA:
Baisse significative de l'adhésion vs. VSSA

Δ *stp1*:
Baisse significative de l'adhésion et l'internalisation vs. VSSA

VISA:
Baisse significative de l'internalisation vs. VSSA

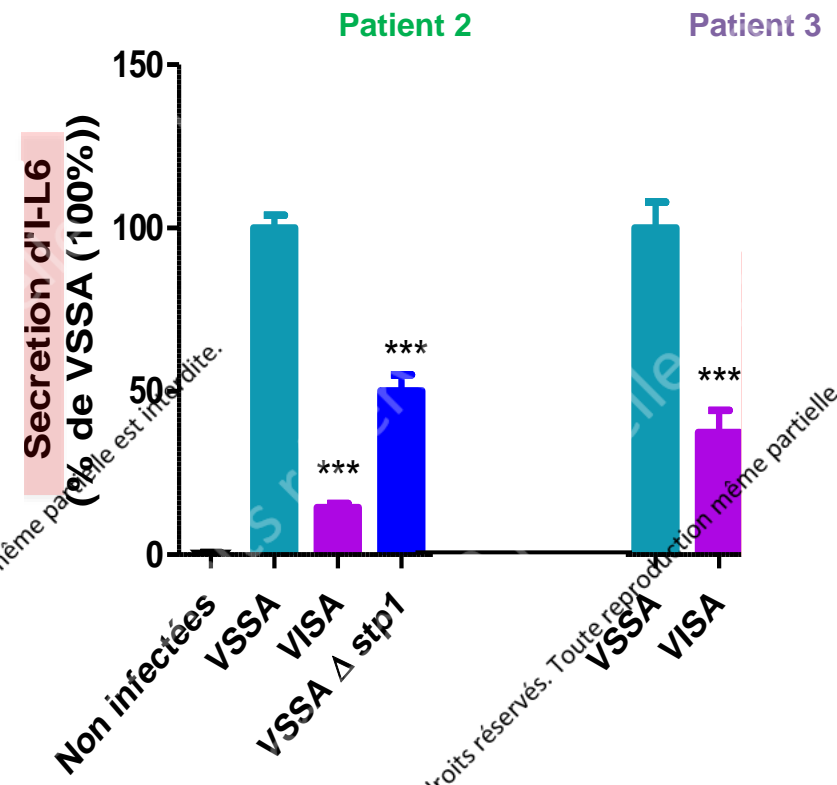
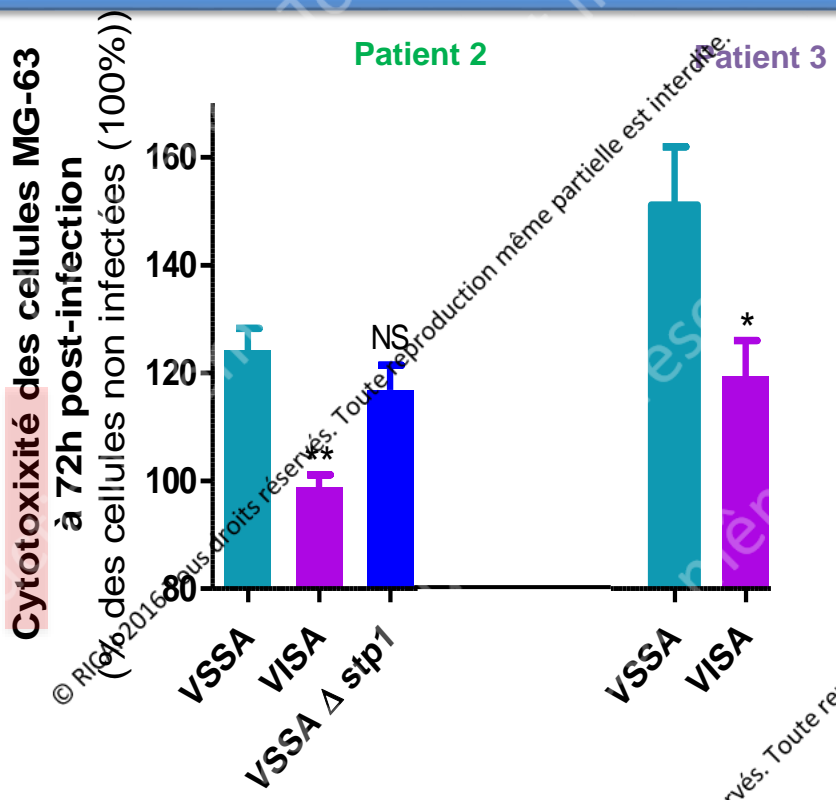
De VSSA à VISA: Quel impact sur la cytotoxicité/la réponse immunitaire ?



VISA:
Baisse significative de la cytotoxicité vs. VSSA

VISA:
Baisse significative de la réponse immunitaire vs. VSSA

De VSSA à VISA: Quel impact sur la cytotoxicité/la réponse immunitaire ?



VISA:
Baisse significative de la cytotoxicité vs. VSSA

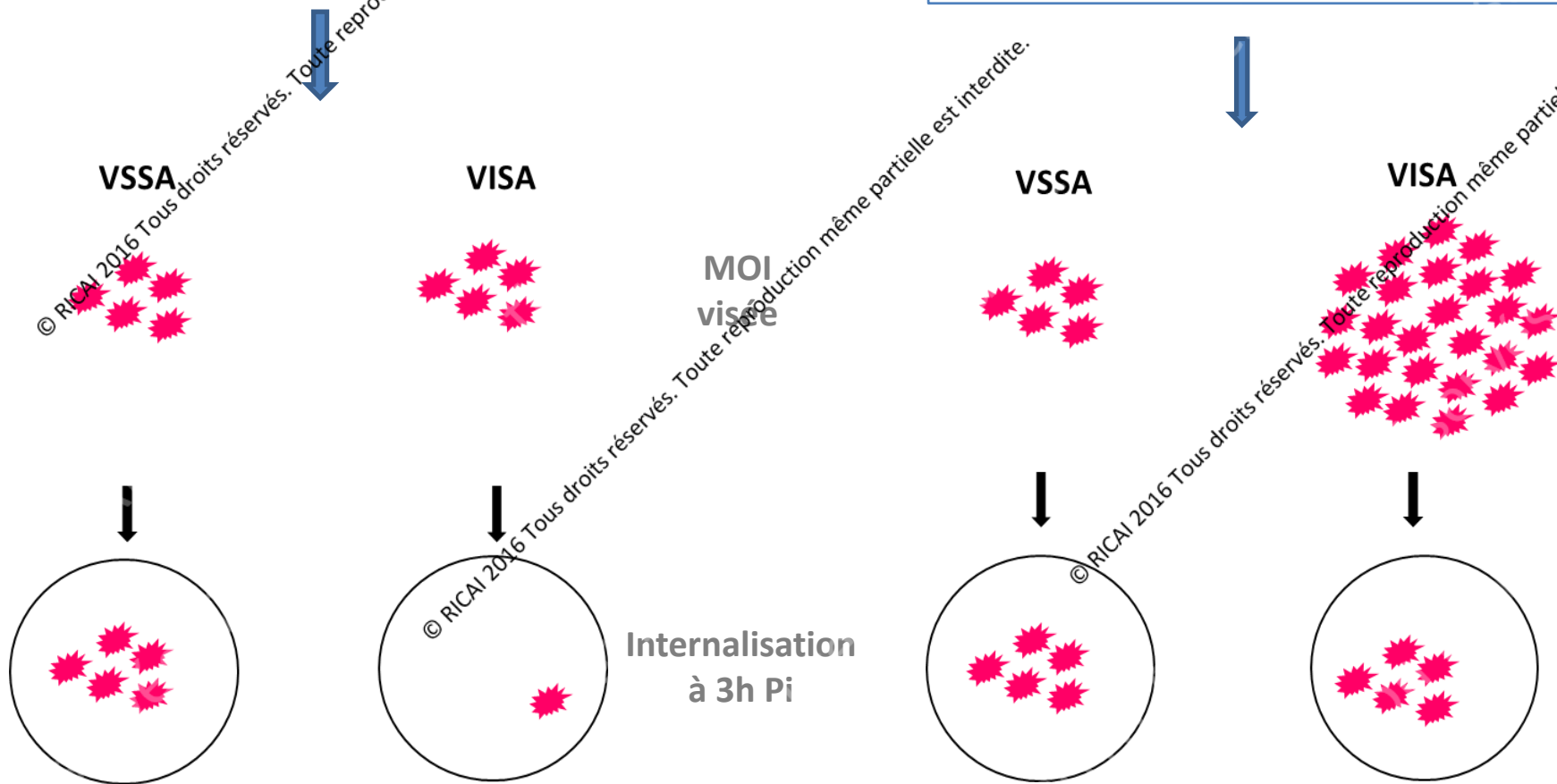
Δ stp1:
Baisse significative de la réponse immunitaire vs. VSSA

VISA:
Baisse significative de la réponse immunitaire vs. VSSA

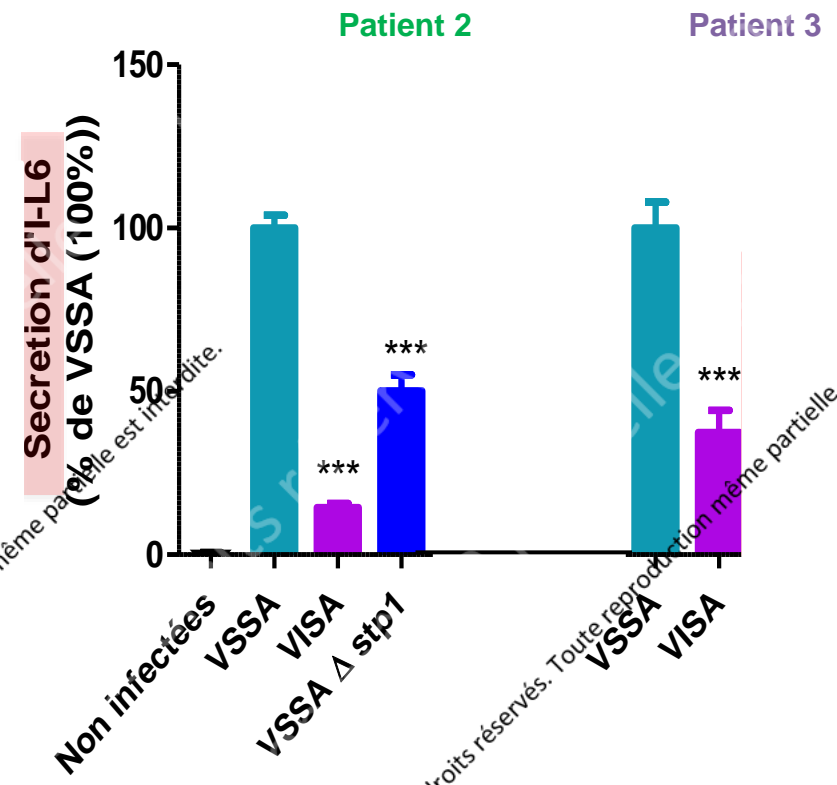
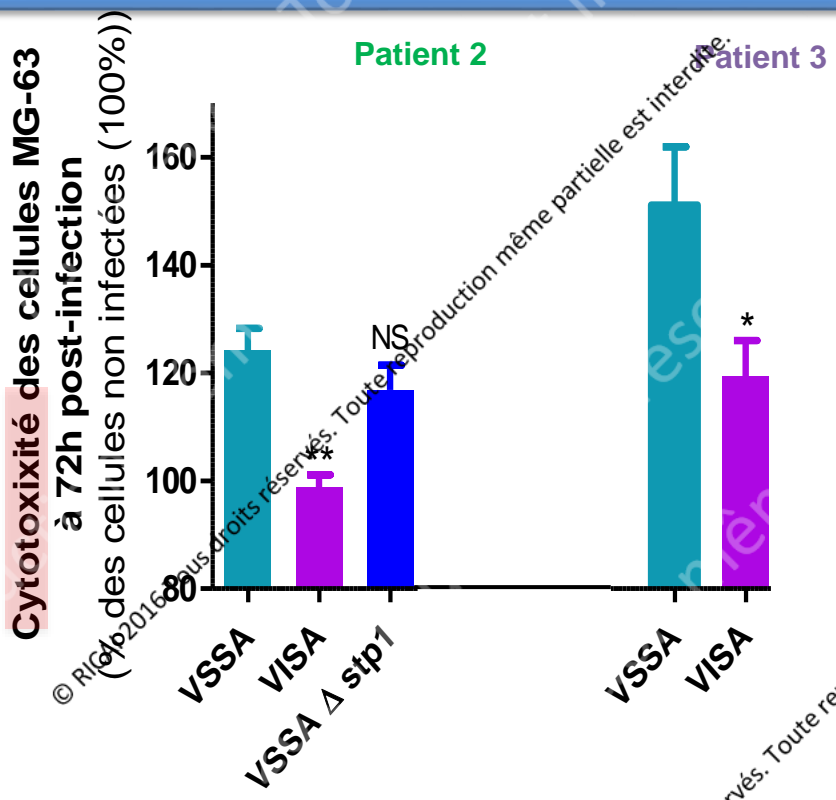
La virulence intracellulaire

- **VISA moins internalisées que VSSA**
- **Résultats cytotoxicité et réponse immunitaire biaisés!**

- **MOI « corrigée » permettant d'obtenir le même nombre de bactéries intracellulaires / cellule à 3h Pi**



De VSSA à VISA: Quel impact sur la cytotoxicité/la réponse immunitaire ?

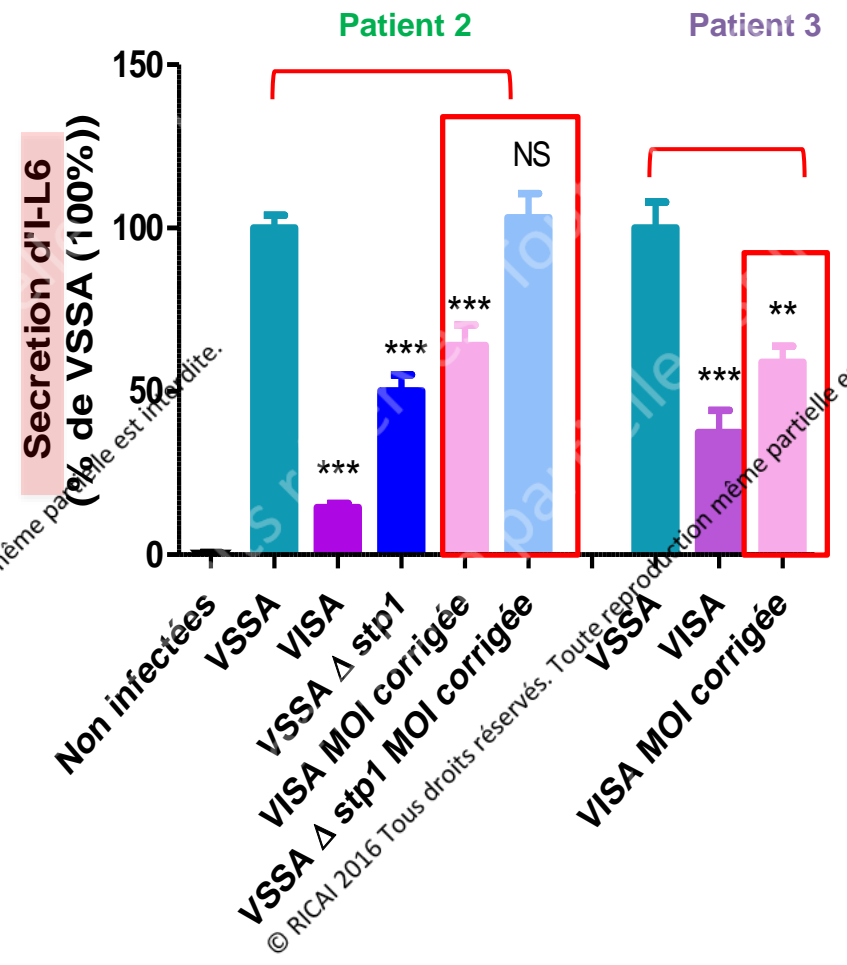
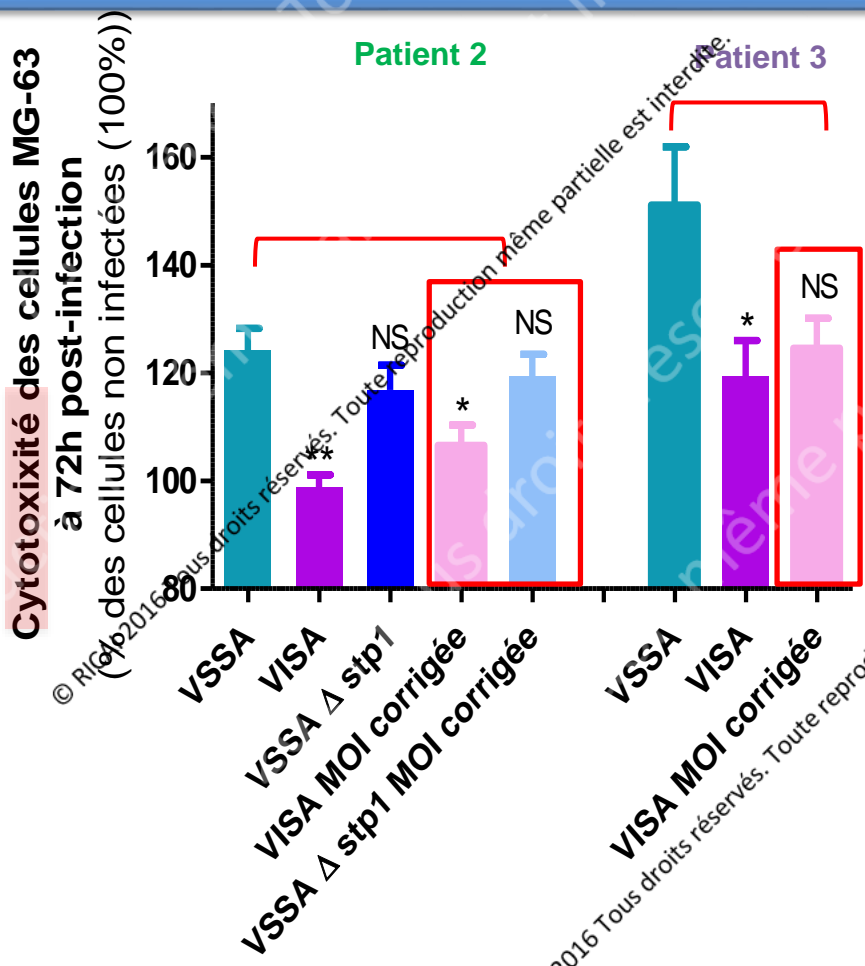


VISA:
Baisse significative de la cytotoxicité vs. VSSA

Δ stp1:
Baisse significative de la réponse immunitaire vs. VSSA

VISA:
Baisse significative de la réponse immunitaire vs. VSSA

De VSSA à VISA: Quel impact sur la cytotoxicité/la réponse immunitaire ?



Même nombre de bactéries internalisées à 3h entre « MOI corrigée » et VSSA à 3h Pi

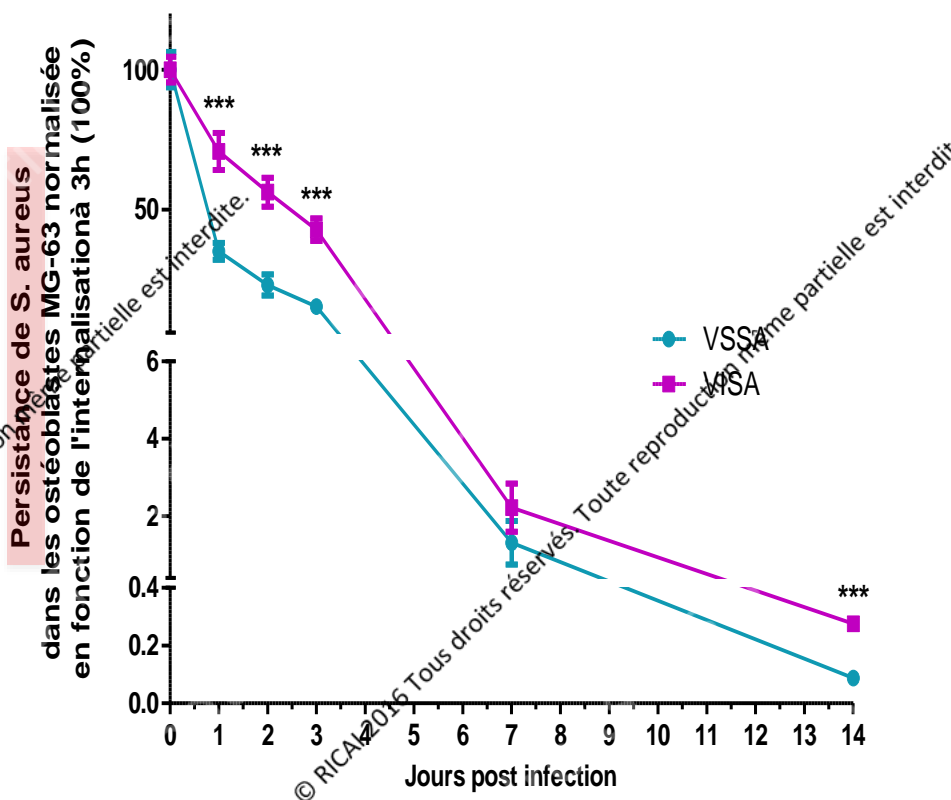
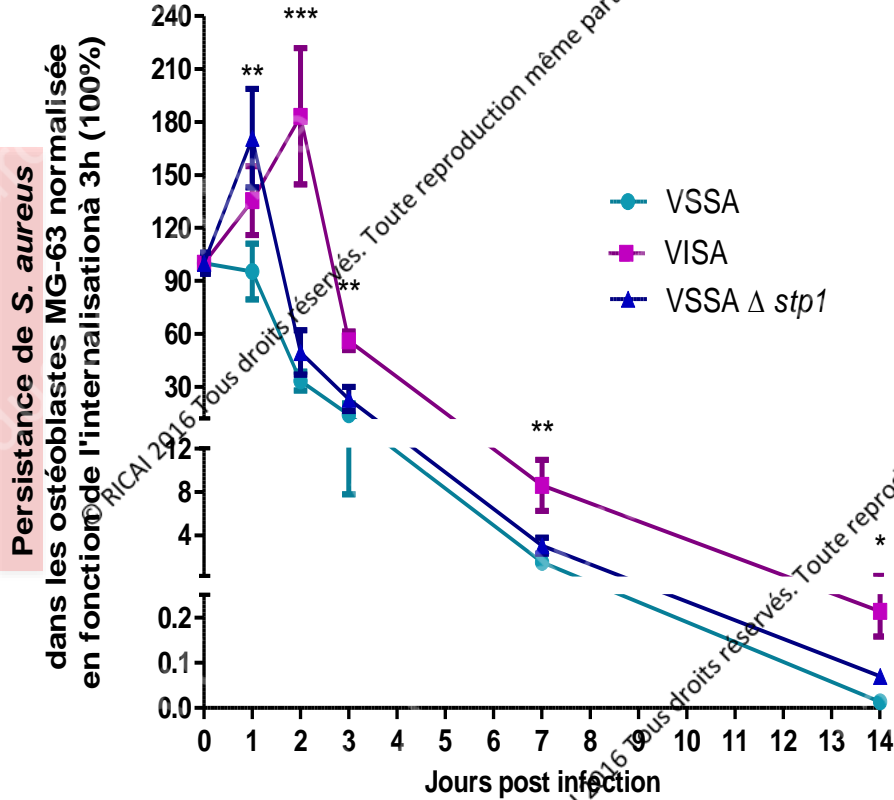
- VISA: moins cytotoxiques vs. VSSA
- VISA: baisse de la réponse immunitaire vs. VSSA
- *stp1*: aucun impact

De VSSA à VISA: Quel impact sur la persistance en intracellulaire?

Patient 2

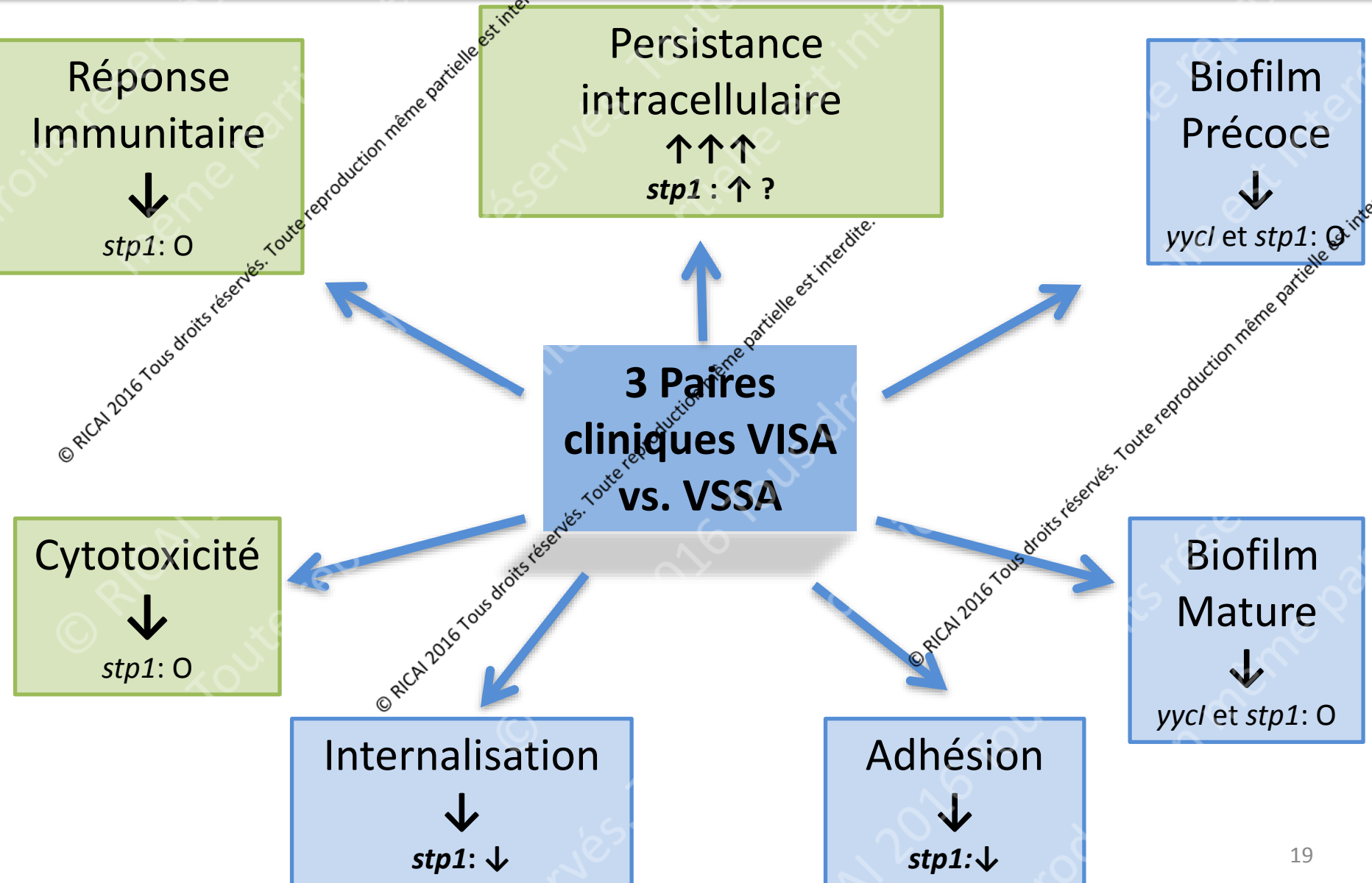
Cinétique de maintien en intracellulaire

Patient 3



VISA: persiste en plus grand nombre dans le compartiment intracellulaire vs. VSSA
VSSA $\Delta stp1$: phenotype légèrement différent vs. VSSA

Est ce que des mécanismes impliqués dans la virulence sont modifiés lors du switch VSSA à VISA ?



Est ce que des mécanismes impliqués dans la virulence sont modifiés lors du switch VSSA à VISA ?

- ✓ **Diminution** de la formation de biofilm, de l'adhésion et l'internalisation pour VISA
 - Probablement impactée par la **modification de la paroi bactérienne**
- ✓ **Modification** de l'expression des facteurs pathogéniques qui abaissent la réponse immunitaire pour VISA
 - Favorise la **persistance intracellulaire**
- ✓ Implication **stp1 ?**: **baisse de l'adhésion/ l'internalisation** mais **pas dans le biofilm**
 - Phénotype VISA: **accumulation de mutations**
- ✓ **Take home message:**
VISA = sanctuarisation intracellulaire
 - Utiliser des antibiotiques avec une **activité intracellulaire !**



Dr. Sophie ASSANT-TROUILLET



Pr. Tristan FERRY



Dr. Florent VALOUR



Pr. Sébastien LUSTIG



Pr. Frédéric LAURENT

**Céline DUPIEUX
Jason TASSE
Patricia SIMOES
Yousef MAALI
William MOUTON
Andréa CARA
Alice MONTEIX
Régis VILLET**

...

Pr. Francois VANDENESCH
Pr. Jérôme ETIENNE
Pr. Gérard LINA
Dr. Anne TRISTAN
Dr. Michèle BES
Dr. Olivier DUWALDER
Dr. Oana DUMITRESCU
Dr. Hélène MEUGNIER



MONASH University

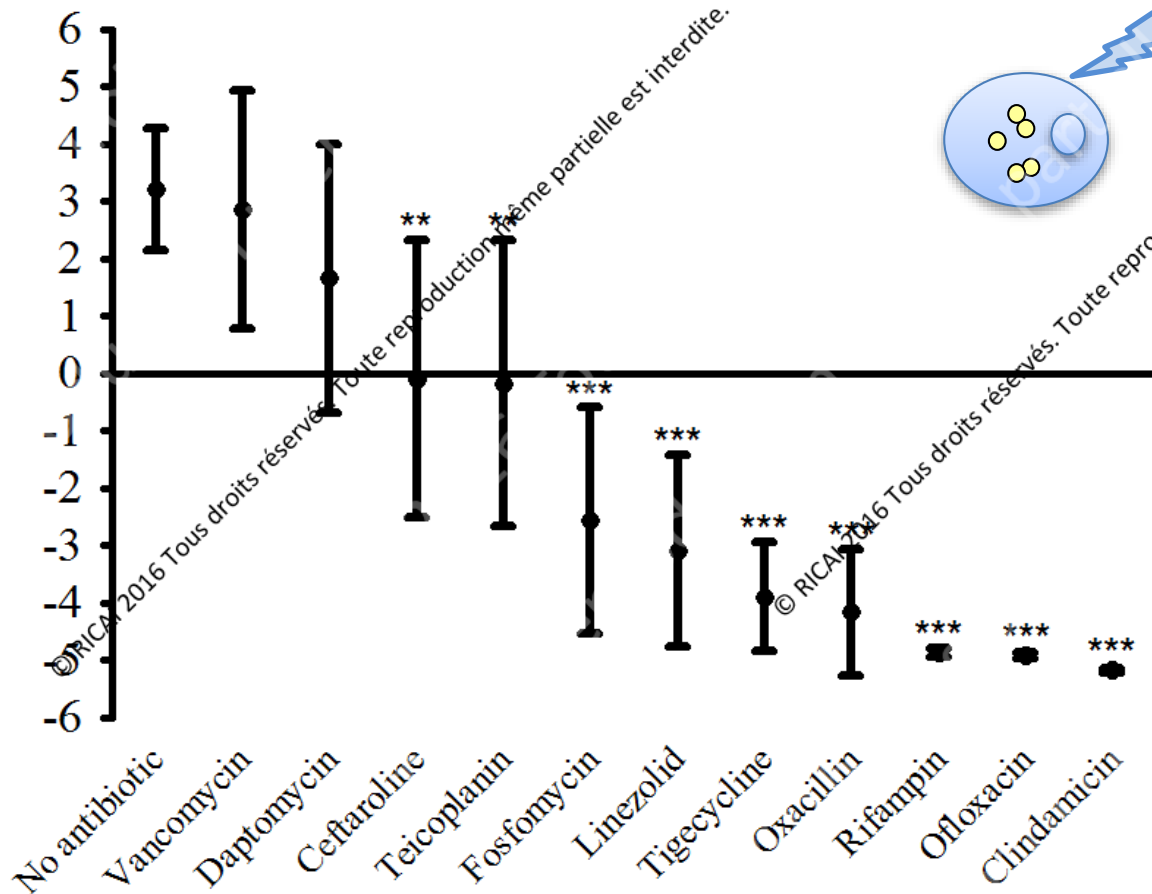
Pr. Anton Peleg
Dr. David Cameron
Pr. Benjamin Howden

Antimicrobial Activity against Intraosteoblastic *Staphylococcus aureus*

Florent Valour,^{a,b} Sophie Trouillet-Assant,^a Natacha Riffard,^d Jason Tasse,^d Sacha Flammier,^d Jean-Philippe Rasigade,^{b,c} Christian Chidlac,^{a,b} François Vandenesch,^{b,c,d} Tristan Ferry,^{a,b} Frédéric Laurent,^{b,c,d} on behalf of the Lyon Bone and Joint Infection Study Group

CFU of intracellular *S. aureus* after 24-h exposition

$\Delta \log_{10}$ for 100,000 cells

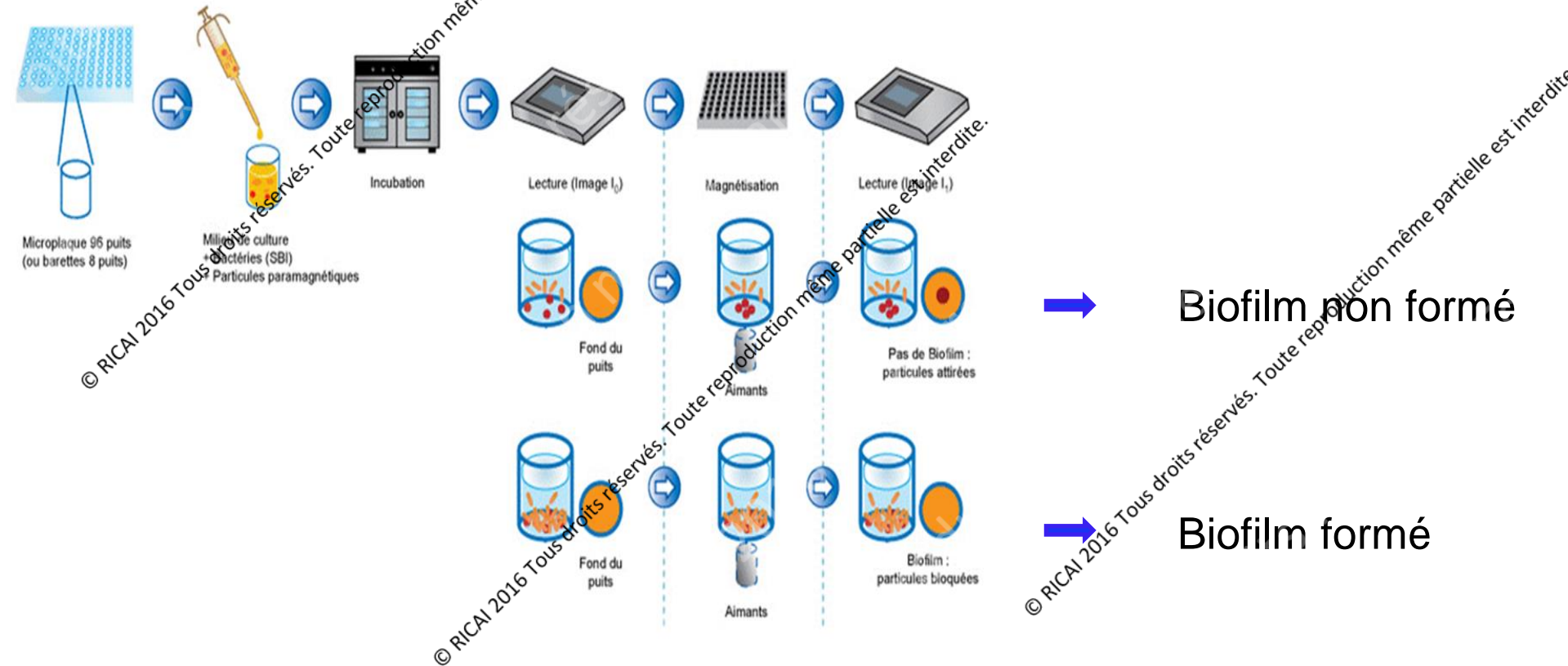


antibiotic

© RICA 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICA 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Biofilm Ring Test®



Chavant *et al.* (2007) *J Microbiol Methods* 68:605-612